

Индекс 74088

Journals

W1

VR

181

ISSN 0049-6804

Врачебное дело

Vrachebnoe Delo
UCSF LIBRARY
Received on: 06-19-91

July
2.91

BEST AVAILABLE COPY

КИЕВ «ЗДОРОВЬЯ»

USE OF ULTRASOUND AMPLITUDE HISTOGRAPHY IN THE DIAGNOSIS OF CHRONIC PANCREATITIS

L. I. Geller, V. N. Maneshin, M. M. Pashko (Khabarovsk)

SUMMARY

Ultrasound amplitude histography was used to evaluate structural disorders of the pancreas in patients with chronic pancreatitis. The amplitude histogram peak proved to be higher in chronic pancreatitis than in healthy subjects.

The method enables to differentiate patients according to the severity of the disease characterized by the level of pancreatic enzymesecretory insufficiency.

Поступила 20.07.89

УДК 612.017.11:616-003.725:616.379-008.64

В. С. ШЛЯХОВЕНКО, М. А. ГУЗОВ, С. Э. МИЛЕНКО, Э. В. МИХАЙЛОВСКАЯ,
А. К. КАЛИНОВСКИЙ, А. А. ХОДАК, К. П. ЗАК

ЕСТЕСТВЕННЫЕ КЛЕТКИ-КИЛЛЕРЫ РАЗЛИЧНОГО ИММУНОЛОГИЧЕСКОГО ФЕНОТИПА (CD16⁺, CD56⁺ И CD57⁺) В КРОВИ БОЛЬНЫХ ИНСУЛИНОЗАВИСИМЫМ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ

Лаборатория гормональной регуляции кроветворения (зав.— проф. К. П. Зак)
Киевского НИИ эндокринологии и обмена веществ

Нами ранее [2, 1], а также работами других авторов [3, 5, 7] было показано, что у большинства больных инсулинов зависимым сахарным диабетом (ИЗСД) наблюдается угнетение активности системы естественных клеток-киллеров (ЕКК), которая во многом определяет неспецифическую резистентность организма, обеспечивает «первую линию защиты» против развития злокачественных опухолей и различных инфекций, а также участвует в регуляции кроветворения и иммунитета.

Оценка состояния системы ЕКК основана на определении их цитотоксической активности по отношению к различным клеткам-мишеням и на непосредственном подсчете количества ЕКК в исследуемых образцах. Наиболее точным способом определения количества ЕКК является метод проточной цитометрии с использованием моноклональных антител (МАТ) к таким мембранным антигенам, как CD16, CD56 и CD57.

Метод проточной цитометрии для исследования состояния неспецифического иммунитета у больных ИЗСД в нашей стране почти не применялся. За рубежом этому вопросу посвящены отдельные работы, в которых использовали одно или не более двух указанных МАТ. Так, показано [7], что в крови больных ИЗСД по сравнению со здоровыми содержится более низкое количество CD57⁺-клеток, другие авторы [3, 5, 10] обнаружили сниженное содержание CD16⁺-клеток. Нами [2] с помощью этого метода впервые установлено, что в крови первичных больных ИЗСД содержится также низкое количество CD56⁺-клеток. Вместе с тем появились данные [4, 9], свидетельствующие о том, что различные МАТ выявляют не совсем фенотипически идентичные субклассы ЕКК, которые обладают неодинаковой цитотоксичностью и, возможно, другими функциями.

Нами сделана попытка при помощи метода проточной цитометрии изучить ЕКК различного иммунологического фенотипа (CD16⁺, CD56⁺ и CD57⁺) у первичных больных ИЗСД. Исследована кровь 20 впервые выявленных больных ИЗСД, не получавших инсулина или каких-либо других сахароснижающих средств, в возрасте 14—36 лет, а также 24 первичных донора в возрасте 18—40 лет, составивших контрольную группу.

У всех обследованных на основании подсчета общего количества лейкоцитов и лейкоцитарной формулы определяли абсолютное содер-

жание лимфоцитов мононуклеары плотности фиксации), используянием эмбрион: 1) а Leu 7 к классов ЕКК выявляющих «Becton—Dick (США) к CD5 гранулосодержащего с ЕКК а для визуализации против иммуноглобулинового зотиоцианатом. Использованием обработки счет и анализатора FACS тар (фирмы «Coulter», США) субпопуляций ток и получающих этих данных вычисляли абсолютные величины.

Исследование CD16⁺, CD56⁺ и CD57⁺ больных ИЗСД более значительное, чем у здоровых, фагоцитов, не более $\pm 0,020$ клеток на 10^9 /л у доноров для всех больных. Держание СИ $\pm 0,038$ клеток у здоровых, Р₁ наблюдалось для CD56⁺ и СИ для CD57⁺ го параллельно, но с любым двумя методами.

При анализе в сравнении с состоянием лимфоцитов у больных ИЗСД и здоровых, числа ярко синтезирующихся ПФ имелись различия, но не были статистически значимы.

Полученные результаты исследований показывают, что в больных ИЗСД количество лимфоцитов, имеющих фагоцитарные свойства, статистически значимо снижено, что может быть связано с наличием в организме больных ИЗСД антигена, который блокирует функцию CD56⁺-клеток.

AGNOSIS OF

disorders of the
peak proved to
severity of the
incency.

Поступила 20.07.89

ХАИЛОВСКАЯ,
ИНОГО
и CD57⁺).
АХАРНЫМ

К. П. Зак)

[3, 5, 7] было
ным сахарным
истемы естеств-
неделяет неспе-
циальную линию
различных ин-
ти иммунитета.
ении их цито-
ткам-мишениям
следуемых об-
гта ЕКК явля-
ются ноклональных
CD16, CD56

ияния неспеци-
почти не при-
ные работы, в
ых МАТ. Так,
со здоровыми
ие авторы [3,
гок. Нами [2]
ови первичных
CD56⁺-клеток,
щие о том, что
дентичные суб-
чностью и, воз-

ной цитометрии
(CD16⁺, CD56⁺)
ровь 20 впервые
или каких-либо
ает, а также 24
их контрольную

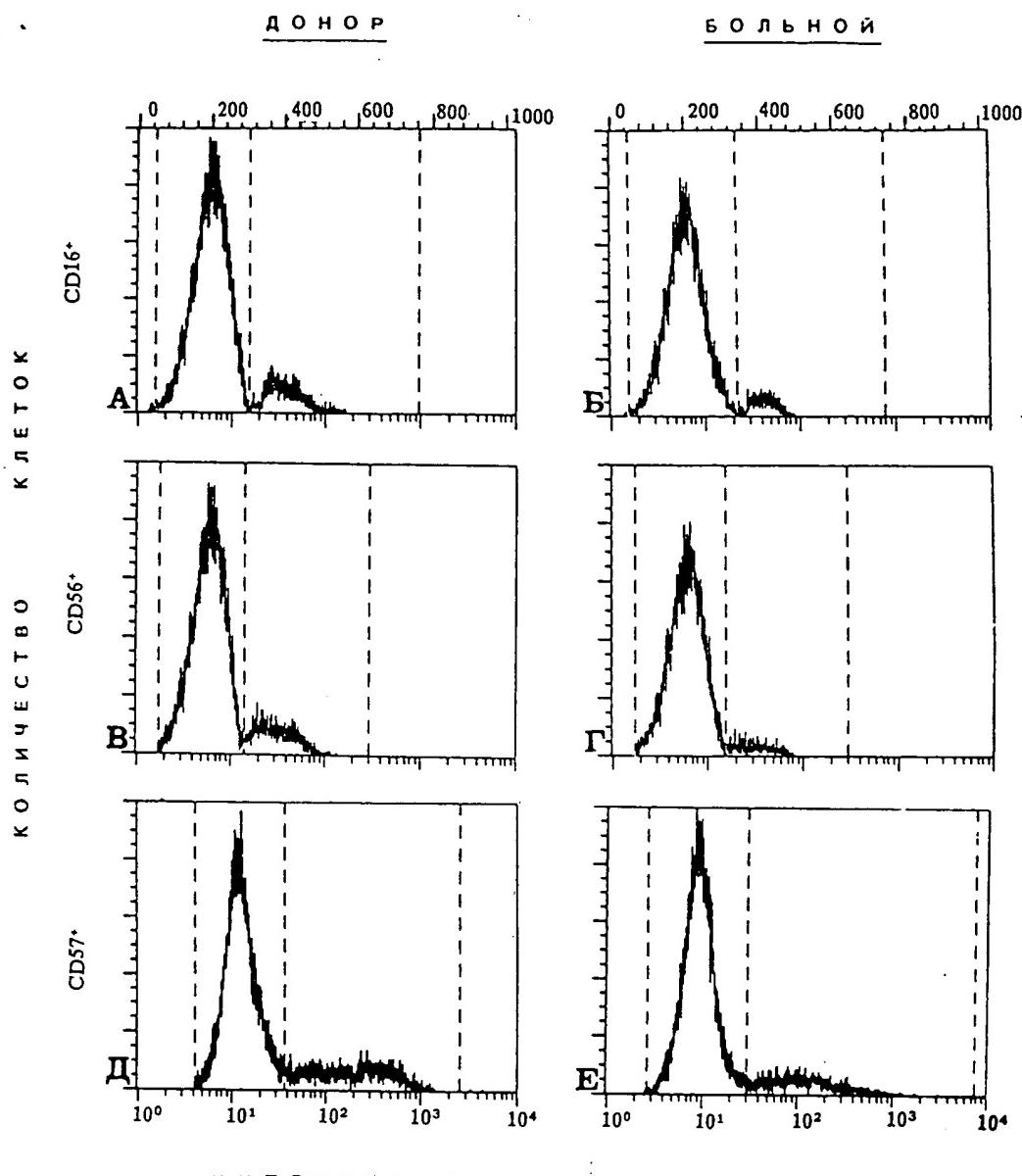
его количества
абсолютное содер-

жение лимфоцитов. Из венозной гепаринизированной крови выделяли мононуклеары дифференциальным центрифугированием в градиенте плотности фиколл-пака (разделяющая смесь фирмы «Pharmacia», Швеция), используя среду RPMI-1640 (фирма «Serva», ФРГ), с добавлением эмбриональной телячьей сыворотки. В работе применяли МАТ: 1) а Leu 7 к CD57 антигену, являющемуся маркером одного из субклассов ЕКК и некоторой части Т-лимфоцитов; 2) а Leu 11 (CD16), выявляющих Fc рецептор для IgG, т. е. около 90% ЕКК (фирма «Becton—Dickinson»); 3) а NKH-1 (фирма «Coulter Immunology», США) к CD56 антигену, который экспрессирован на всех больших гранулосодержащих лимфоцитах (БГЛ) периферической крови человека с ЕКК активностью [6]. В случае использования МАТ а NKH-1 для визуализации метки клетки обрабатывали козьими антителами против иммуноглобулинов мыши, конъюгированными с флюоресцеинизотиоцианатом — ФИТЦ (фирма «Coulter Immunology», США). Использование МАТ а Leu 7 и а Leu 11 не требует этой дополнительной обработки, так как они непосредственно связаны с ФИТЦ. Подсчет и анализ клеток проводили на проточных цитофлюориметрах FACS tar (фирма «Becton—Dickinson», США) и EPICS-C (фирма «Coulter», США). При определении содержания лимфоцитов различных субпопуляций в каждом образце анализировали по 10 000—25 000 клеток и получали соответствующие гистограммы (рис.). На основании этих данных и результатов подсчета количества лимфоцитов в мазках вычисляли абсолютное содержание в крови клеток каждой из субпопуляций.

Исследования показали, что абсолютное и относительное содержание CD16⁺, CD56⁺ и CD57⁺-клеток в крови первичных нелеченых больных ИЗСД статистически достоверно ниже, чем у здоровых. Наиболее значительное снижение отмечено при анализе содержания лимфоцитов, несущих CD16 и CD56 антигены ($0,057 \pm 0,018$ и $0,084 \pm 0,020$ клеток $\cdot 10^9 / \text{л}$ у больных; $0,220 \pm 0,054$ и $0,259 \pm 0,029$ клеток $\cdot 10^9 / \text{л}$ у доноров; $P < 0,05$ и $P < 0,001$ соответственно). Практически для всех больных характерен низкий уровень в крови этих клеток. Содержание CD57⁺-лимфоцитов изменялось в меньшей степени ($0,199 \pm 0,038$ клеток $\cdot 10^9 / \text{л}$ у больных против $0,374 \pm 0,057$ клеток $\cdot 10^9 / \text{л}$ у здоровых, $P < 0,02$). Следует отметить, что лишь у некоторых больных наблюдалось одновременное уменьшение в крови количества CD16⁺, CD56⁺ и CD57⁺-клеток. В большинстве случаев не установлено строгого параллелизма при любом варианте сравнения по всем трем или по любым двум показателям.

При анализе гистограмм видно, что у больных ИЗСД (рис.) по сравнению со здоровыми наблюдалось не только уменьшение количества лимфоцитов изучаемых субпопуляций, но и снижение среди них числа ярко светящихся клеток, расположенных вправо от осевой линии. По имеющимся данным [4], эти ярко флюоресцирующие клетки обладают наибольшей плотностью антигена и выраженной цитолитической активностью.

Полученные данные подтверждают результаты наших предыдущих исследований [1, 2], согласно которым у нелеченых первичных больных ИЗСД выявлено ослабление системы ЕКК. В настоящем сообщении статистически достоверное уменьшение количества ЕКК в крови таких больных обнаружено при использовании МАТ ко всем трем поверхностным антигенам ЕКК. Вместе с тем полученные результаты указывают на то, что наиболее значительно изменяются ЕКК, экспрессирующие CD56 антиген. Согласно последним данным [9], более 90% ЕКК одновременно коэкспрессируют CD16 и CD56 антигены, но последний маркер характерен для субпопуляции БГЛ, обладающей наиболее высокой активностью ЕКК. Показано, что очень высокая цитолитическая активность ЕКК к клеткам-мишениям, возникающая после применения интерлейкина-2, в основном обусловлена появлением в крови CD56⁺-клеток. При длительном воздействии интерлейкина-2 на ЕКК



in vitro и *in vivo* одновременно со значительным увеличением активности ЕКК количество $CD16^+$ -клеток существенно не изменяется или даже снижается. Количество клеток с высокой плотностью $CD56$ антигена при этом резко увеличивается.

Отсутствие строгого параллелизма в изменениях количества различных субпопуляций ЕКК объясняется, вероятнее всего, тем, что у больных нарушения созревания и дифференцировки ЕКК могут быть неодинаковыми вследствие разных причин развития сахарного диабета (генетический дефект, аутоиммунный процесс, предшествующие вирусные заболевания и др.). В то же время показано [6], что в процессе созревания ЕКК исследуемые поверхностные антигены могут изменяться.

Таким образом, для первичных нелеченых больных ИЗСД характерно низкое содержание в крови ЕКК, экспрессирующих $CD16$, $CD57$ и особенно $CD56$ антигены. Степень уменьшения количества клеток исследуемых субпопуляций ЕКК в крови больных неодинакова. Это, по-видимому, опосредовано различиями в процессах созревания, дифференцировки данных клеток и поступления их в циркуляцию, что в свою очередь, возможно, отражает многообразие причин, приведших к развитию болезни.

1. Содержание и ственных клеток. К. П. Зак, Б. І. 1987.— Т. 33, № 2.
2. Цитофлуориметрический моноклональный зов, В. С. Шляхова. С. 36—38.
3. Bizzarro A., Di mellito insulinoassay. Ellis T. M., Pytiated human Lymphocyte cytotoxicity assay. Orlean.— 1988.—
4. Hussain M. J., et al. of natural killer cell activity determined. // Clin Immunol Immunopathol.
5. Merle-Bazal H., et al. large granular lymphocyte treatment. P. 1296—1303.
6. Negishi K., Watanabe activities in human N. 3.— P. 345—350.
7. Rumpold H., S antibodies against Leukocyte Type I antigen. // Can J Clin Endocrinol.
8. Well-Hillman C. induced by increased expression of antigen. // Can J Clin Endocrinol.
9. Wilson R. G., et al. in patients with type 1 diabetes mellitus. // Clin Immunol Immunopathol.

NATURAL KILLER CELLS
($CD16^+$, $CD56^+$)

V. S. Shlia

The method of Leu 11 ($CD16^+$) populations of natural killer cells in patients with type 1 diabetes mellitus. Patients with type 1 diabetes mellitus have a lower number of $CD56^+$ cells than healthy persons. In particular, $CD56^+$ cells are decreased in patients with type 1 diabetes mellitus.

The degree of reduction of $CD56^+$ populations is individual and may lead to development of complications.

УДК 612.017:616.155.1

СОСТОЯНИЕ ГЕМОСИСТАМИНА

Лаборатория цитометрии

Для оценки состояния гемосистемы применяют метод цитометрии. Т-лимфоциты способны вырабатывать гемосистему, повышая ее концентрацию в организме. Это позволяет использовать цитометрию для оценки состояния гемосистемы.

Л и т е р а т у р а

1. Содержание и ultraструктура больших гранулосодержащих лимфоцитов (естественных клеток-киллеров) в крови больных сахарным диабетом I типа / К. П. Зак, Б. М. Хоменко, В. В. Афанасьева и др. // Пробл. эндокринологии.— 1987.— Т. 33, № 4.— С. 3—5.
2. Цитофлуориметрический анализ субпопуляций лимфоцитов крови, выявляемых моноклональными антителами, у больных сахарным диабетом I типа / М. А. Грумона, В. С. Шляховенко, Е. А. Сакало и др. // Там же.— 1989.— Т. 35, № 3.— С. 36—38.
3. Bizzarro A., Di Maetiro G., De Bellis A. et al. Cellule natural killer nel diabete mellito insulinico dipendente // Med. Oggi.— 1987.— Vo. 7, N 3.— P. 247—252.
4. Ellis T. M., Pybicki M. K., Fischer R. G. Functional heterogeneity of in vivo generated human Lymphokine-Activated Killer (LAK) cells assessed using single cell cytotoxicity assays. // 79th ann. meet. Amer. ass. cancer res. Proceedings. New Orleans.— 1988.— Vol. 29.— P. 397.
5. Hussain M. J., Alvaggi L., Millward B. A. et al. Evidence that the reduced number of natural killer cells in Type I (insulin-dependent) diabetes may be genetically determined. // Diabetologia.— 1987.— Vol. 30, N 12.— P. 907—911.
6. Merle-Bezal H., Boucheix C., Karray S. et al. A chronic lymphocyte leukemia with large granular lymphocytes. Phenotype and functions of leukemia cells under in vitro treatment by differentiations inducers // Cancer.— 1987.— Vol. 59, N 7.— P. 1296—1303.
7. Negishi K., Waldeck N., Chandy G. et al. Natural killer cell and islet killer cell activities in human Type I diabetes // Exp. clin. Endocrinol.— 1987.— Vol. 89.— N 3.— P. 345—353.
8. Rumpold H., Stückler G., Fellinger A. et al. Reactivity patterns of monoclonal antibodies against myeloid-associated antigens with human natural killer cells. // Leukocyte Typing II.— 1986.— Vol. 3.— P. 145—156.
9. Well-Hillman G., Fisch P., Priebe A. F. et al. Lymphokine-activated killer activity induced by in vivo Interleukin 2 therapy: predominant role for lymphocytes with increased expression of CD2 and Leu 19 antigens but negative expression of CD16 antigen. // Cancer. Res.— 1989.— Vol. 49.— P. 3680—3688.
10. Wilson R. G., Anderson J., Stenton B. K. et al. Natural killer cells in insulin dependent diabetes mellitus. // Brit. Med. J.— 1986.— Vol. 293, N 6541.— P. 244—249.

NATURAL KILLER-CELLS OF DIFFERENT IMMUNOLOGICAL PHENOTYPE (CD16+, CD56+ AND CD57+) IN THE BLOOD OF PATIENTS WITH INSULIN-DEPENDENT DIABETES MELLITUS

V. S. Shliakhovenko, M. A. Gruzov, S. E. Milenko, E. V. Mikhailovskaya,
A. K. Kalinovsky, A. A. Khodak, K. P. Zak (Kiev)

S U M M A R Y

The method of flow cytometry employing monoclonal antibodies a Leu 7 (CD57), a Leu 11 (CD16) and a NKH-1 (CD56) was used to examine to content of different subpopulations of natural killer-cells in the blood of primary patients with insulin-dependent diabetes mellitus and in healthy subjects.

Patients with insulin-dependent diabetes mellitus showed as compared with healthy persons a lower content of natural killer-cells carrying all the examined markers, in particular, CD56.

The degree of reduction of the number of natural killer-cells of different subpopulations is individual for each patient that, possibly, reflects the diversity of causes leading to development of the disease.

Поступила 02.07.90

УДК 612.017:616.155.372-006.446-085.28

А. С. ЗВЕРКОВА, Г. Г. БРАТУСЬ

СОСТОЯНИЕ Т-СИСТЕМЫ ИММУНИТЕТА У БОЛЬНЫХ ГЕМОБЛАСТОЗАМИ ПРИ ПОЛИХИМИОТЕРАПИИ

Лаборатория цитоэнзимдиагностики (руководитель — д-р мед. наук А. С. Зверкова)
Киевского НИИ гематологии и переливания крови

Для оценки Т-системы иммунитета в норме и при патологии широко применяется теофиллиновый метод определения субпопуляций Т-лимфоцитов [8]. В основе его лежит способность теофиллина (ТФ) повышать внутриклеточный уровень цАМФ [7], что вызывает ослабление экспрессии Е-рецепторов на поверхности Т γ -клеток (супрессоров/киллеров) и не отражается на Е-рецепторном представительстве